

집단급식용 생계육에서 분리된 *Salmonella*의 항생제 내성과 위생 처리제의 영향

강지현 · 이영덕 · 정기창 · 박종현*
 경원대학교 식품생물공학과

Sanitizing Agent Effect and Antibiotic Resistance of *Salmonella* spp. Isolated from Raw Chicken Carcasses in Food Service

Ji Hyun Kang, Young Duck Lee, Ki Chang Jung and Jong-Hyun Park
 Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University

To control the growth of *Salmonella* on raw chicken supplied in food service, they were isolated and analysed for their physiological characteristics. Total viable microbe counts under the skin of the chicken amounted to 10% of numbers on their skin. Fifty one of *Salmonella* were isolated and identified from 75 chicken carcass samples. About 70% of the isolates showed resistance to more than four antibiotics, which indicated very high resistance among the strains ever reported in Korea. Lactic acid and trisodium phosphate(TSP) as sanitizing agent were applied to the *Salmonella* spp. isolates by agar diffusion method. The resistance by isolates to those sanitizing agents was compared with type strains of *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. typhimurium* ATCC 12023, *S. heidelberg* and *S. enteritidis*. The isolates showed similar or less resistance to the type strains as for the lactic acid. However, as for trisodium phosphate known recently as a good sanitizer, 50% of the isolates showed more resistant compared with the type strains. Also, the treatment time and regeneration medium affected significantly the resistance of the isolates, which indicates that more careful test might be needed for TSP's practical application to raw chicken. Therefore, From the results, it is suggested that antibiotic treatment during breeding broiler and contamination after slaughtering should be minimized along with careful use of sanitizing agent in order to ensure more safe raw chicken supply.

Key words: raw chicken, food service, *Salmonella*, antibiotics, trisodium phosphate, lactic acid

서 론

경제발전과 더불어 우리나라는 일반적인 식품위생환경은 많이 향상되었으나, 식생활양식이 변화하면서 육류식품의 소비가 늘고 외식이 많아짐에 따라 서구선진국⁽¹⁻³⁾과 비슷한 유형의 식중독성 병원균에 의한 식중독 사고의 위험은 증가하고 있다. 또한 집단급식과 수입식품의 소비증가 등 식품의 생산 및 소비방식이 변화함에 따라 식중독 발생이 증가하고 대형화하는 추세가 뚜렷하여 그 이전에는 문제시되지 않던 각종 식품의 위생이 식품품질과 함께 사회적인 문제로 대두되고 있어 이에 대한 대책이 시급하다.

한국의 원인식품별 식중독발생현황을 보면 육류 및 그 가

공품이 가장 높은 식중독유발식품군⁽⁴⁾으로 전체 식중독환자의 약 50%를 차지하고 있다. 육류 중에서도 소고기나 돼지고기와 달리 계육의 경우에는 도계과정 중 침수냉각⁽⁵⁻⁶⁾과 재래적인 상온 및 냉장유통에 기인하여 *Salmonella* 등에 의한 식중독 발생이 증가함에 따라 매우 중요한 위해 식품으로 대두되고 있다.

계육에서 중요한 식중독세균인 *Salmonella*는 Gram(-), 간균, 통성 혐기성균으로 대장균등과 함께 장관계 감염의 주요한 장내세균이다. O antigen, H antigen, Vi antigen에 의해 2200여개의 혈청형으로 구분되어지고 있고⁽⁷⁻⁸⁾, 동물에 따른 숙주 특이성이 없는 *Salmonella*와 숙주 특이성이 있는 *Salmonella*로 구분하고 있다. 사람, 동물 이외에 식물, 토양에서도 분리되기도⁽⁹⁾ 하고 자연 환경⁽¹⁰⁻¹¹⁾이나 기축⁽¹²⁾에서도 광범위하게 분리되기도 한다. 사람에게서 salmonellosis는 주로 여름에 발생하였지만 근래는 계절에 무관하게 발생⁽¹³⁾하고 있다. 그리고 초등학교 집단 급식소에서 *Salmonella*에 의한 식중독 발생은 1994년 이전에는 *S. typhimurium*이었으나 이후 *S. enteritidis*에 의한 발생이 더 많이 증가하고 있는 추세이

*Corresponding author : Jong-Hyun Park, Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University, Sujung-Gu, Songnam, Kyonggi-Do 461-701, Korea
 Tel: 82-31-750-5523
 Fax: 82-31-750-5273
 E-mail: p5062@mail.kyungwon.ac.kr

다¹⁴). 항생제 내성 균주는 항생제의 오·남용으로 인해 오랜 시간 항생제와 접촉하면서 내성이 생기거나, 전달성 R-plasmid를 다른 세균으로부터 전달받아 내성이 생기게 된다¹⁵). 이러한 항생제 내성은 *Salmonella*의 식중독 감염시 약물 치료에 어려움이 많이 따르므로 심각한 문제가 되고 있다. 계육의 위생 및 안전성은 병원성 식중독균과 부패세균에 의해 많은 영향¹⁶⁻¹⁷)을 받으며 유통 및 저장 과정 중에 교차 오염이 주원인이다¹⁸). 오염방지를 위한 기존의 sanitation treatment처리는 유통 및 저장 중 저장성의 감소¹⁹)를 수반하기도 한다. 이러한 이유로 미생물에 의한 오염의 최소화와 여러 물리, 화학적인 방법에 대한 연구²⁰⁻²¹)의 필요성이 대두되고 있다.

따라서 본 연구에서는 집단급식소에 납품된 닭고기에서 분리된 *Salmonella*의 생리적인 특성에 관하여 조사하여 이를 바탕으로 식중독균의 오염방지 및 불활성화 기술을 개발하는데 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

계육 및 사용균주

경기지역의 한 초등학교에 납품되는 단체급식용 계육 제품에서 일반세균과 *Salmonella*균을 분리하여 실험에 사용하였다. 수집된 재료들은 식단에 따른 발주사양에 맞추어 납품업체에서 부위별로 분리 및 진처리 되고 포장되어 5°C 이하의 온도에서 납품되었다. 부위별로 보면 계육 토막 30 개, 닭가슴살 20 개, 닭다리살 10 개, 닭다리 10 개, 통닭 5 마리 등 총 75 개의 시료를 사용하였다. 항생제 내성과 특이성을 확인하기 위한 표준균주로는 *Salmonella typhimurium* ATCC14028, *Salmonella typhimurium* ATCC12023, *Salmonella heidelberg*, *Salmonella enteritidis*(isolated from egg)를 사용하였다.

균분리 및 동정

총균수 계측: 닭고기 25 g을 무균적으로 채취하고 0.85% 생리식염수 225 mL를 가하여 stomaching(60초, 8.0 strokes/sec)한 후 0.1 mL를 취하여 plate count agar(Difco)배지에 도말하고, 35°C에서 24 시간 배양한 후 계측하여 총균수로 사용하였다. 특히 통닭의 표피와 표피내부의 살부위에서의 총균수 측정을 위하여 통닭은 polyglove를 끼고 절단용 가위는 매회 화염 멸균하여 무균적으로 각각의 시료 25 g씩을 채취하였다.

***Salmonella*균의 분리·동정:** 먼저 *Salmonella*를 분리하기 위해서는 식품공전에서 제시된 방법으로 분리를 시도하였다. 225 mL 생리식염수에 계육시료 25 g을 넣고 stomaching하여 완전히 혼합한 검액 1 mL를 증균용 액체배지인 selenite F broth 10 mL에 접종하였다. 이어서 37°C에서 48 시간 증균한 후 증균액 0.1 mL를 deoxycholate citrate agar(Difco)에서 24 시간 배양하여 분리하였다. 또한 시료 중의 *Salmonella* 선택배지균의 분리는 차²²)의 방법에 따라 계육시료를 취하여 Salmosyst broth(Merck) 225 mL를 가하고 35°C에서 6-8 시간 배양한 후 배양액 10 mL를 취하여 이에 Salmosyst selective supplement(Merck)를 가하고 30 분간 방치한 후 완

Table 1. Varieties of antibiotics and amounts used for antibiotic-sensitive test

Class	Antibiotic	Amount on disk (μg)
β-Lactams	Ampicillin	10
	Cephalothin	30
Aminoglycosides	Streptomycin	10
	Kanamycin	30
	Gentamicin	10
	Neomycin	30
Tetracyclines	Tetracycline	30
Quinolones	Nalidixic acid	30
Others	Chloramphenicol	30

전히 혼합하였다. 이를 35°C에서 18~22 시간 배양한 후 Rambach agar(Merck) 평판배지에 희석하여 35°C에서 24 시간 배양하고 전형적인 적색을 나타내는 집락들을 분리하였다.

분리된 *Salmonella*선택배지 분리균을 대상으로 Gram stain, H₂S 생성시험, urease test, methyl red test, indole test, Voges-Proskauer test 등의 생화학적 실험²³)을 일차적으로 실시하였고, *Salmonella*의 양상을 나타내는 경우에는 API 20E (bioMerieux)로 실험을 하여 나온 결과는 API Lab plus. (bioMerieux) software를 이용하여 *Salmonella*임을 확인하였다.

항생제 감수성 실험

*Salmonella*로 확인된 균주는 agar disk diffusion 시험법에 의하여 β-lactam계, aminoglycoside계, tetracycline계, quinolone계 등에 속하는 항생물질 9 종에 대한 내성을 시험하였다. 항생제로는 ampicillin, chloramphenicol, cephalothin, gentamicin, kanamycin, neomycin, nalidixic acid, streptomycin, tetracycline(Sigma)의 9 종을 사용하였으며, 시험균주를 BHI agar(Difco) 평판배지에 접종하여 35°C에서 하룻밤 배양한 후 8 mm 항생제 디스크를 배지 위에 올려놓고 35°C에서 하룻밤 배양한 후 생육저지환의 직경을 측정하였다. 시험에 사용한 항생제의 종류 및 종류별 항생제 양은 Table 1과 같다.

Sanitizing agent에 대한 분리 *Salmonella*균의 내성특성 농도에 따른 lactic acid와 trisodium phosphate에 대한 내성:

1) Lactic acid에 대한 내성

*Salmonella*로 동정된 균주는 agar disk diffusion 시험법에 의하여 시험균주를 BHI agar(Difco) 평판배지에 접종하고 35°C에서 하룻밤 배양한 후 8 mm 디스크를 배지 위에 올려놓고 각각 1.5%(v/v), 3.0%, 6.0%, 9.0%의 lactic acid를 분주하여 35°C에서 다시 하룻밤 배양한 후 생육저지환의 직경을 측정하였다.

2) Trisodium phosphate에 대한 내성

*Salmonella*로 확인된 균주는 agar disk diffusion 시험법에 의하여 시험균주를 BHI agar(Difco) 평판배지에 접종하고 35°C에서 하룻밤 배양한 후 8 mm 디스크를 배지 위에 올려놓고 각각 10.0%(w/v), 12.5%, 20.0%, 25.0%의 TSP(trisodium phosphate)를 분주하여 35°C에서 하룻밤 배양한 후 생육저지환의 직경을 측정하였다.

Table 2. Total viable cell counts from each parts of raw chicken carcass(unit: CFU/g)

No and part of chicken	Chicken breast	Chicken leg	
1	Flesh	3.80×10^4	1.30×10^5
	Skin	4.10×10^5	4.40×10^5
2	Flesh	1.70×10^4	1.90×10^4
	Skin	9.20×10^4	3.15×10^5
3	Flesh	3.60×10^4	7.20×10^4
	Skin	1.10×10^5	3.90×10^6
4	Flesh	3.10×10^5	3.40×10^5
	Skin	1.79×10^6	1.04×10^6
5	Flesh	3.20×10^6	5.90×10^5
	Skin	3.70×10^5	3.70×10^5

Trisodium phosphate 처리 시간과 regeneration medium에 따른 내성: 2종의 표준균주와 *Salmonella*로 확인된 8종의 균주를 각각 Salmosyst broth, BHI broth, LB broth에서 24시간 배양한 후 각각의 broth에서 1 mL을 취하여 8,000 rpm에서 5분간 원심분리를 행하고, 원심분리에서 회수한 침전물에 생리식염수를 가하여 세척한 후 다시 8,000 rpm에서 5분간 원심분리를 하였다. 이 세척 과정을 2회 반복하였으며 마지막으로 회수한 침전물에 1% TSP 수용액을 첨가하여 각각 5분, 10분간 처리하였다. 이렇게 반응시킨 배양액은 Salmosyst broth는 Rambach agar, BHI broth는 BHI agar, LB broth는 SS agar에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 생균수를 계측하였다.

결과 및 고찰

균의 분리 및 동정

총균수: 토막으로 전처리되지 않은 5마리의 통닭을 대상으로 총 세균의 분포현황 분석 및 세균 오염 정도를 측정하였다. Table 2와 같이 닭의 표피와 표피내부 살부위의 세균의 분포는 이미 많은 오염을 확인할 수가 있었다. 표피부위는 $10^4 \sim 10^6$ CFU/g의 분포를 보이고 있으며 표피내부 살부위에서도 비슷한 경향을 보이고 있었다. 그러나 살부위에는 표피부위보다 약 1/10정도의 세균분포를 보이고 있었으며 흥미롭게도 이미 많은 세균이 표피의 내부인 살부위에도 오염되어 존재함을 알 수가 있었다. 이러한 사실은 공급되기 전의 여러 전처리 단계중에서 표피에서 세균이 내부로의 이동을 의미하고 계육의 열처리는 반드시 표피 내부에까지 충분히 이루어져야 한다는 것을 알 수가 있었다.

Salmonella-like strain 분리: *Salmonella*를 증균하기 위하여 selenite F와 selective supplement(Merk)를 함께 사용하였다. 그런데 selenite F에서 증균 배양한 경우는 증균이 잘 되지 않아 colony를 deoxycholate citrate agar 평판배지에서 거의 분리할 수가 없었다. 이와 달리 selective supplement(calcium carbonate, potassium tetrathionate, oxbile, brilliant green)에서 증균한 후 Rambach 평판배지에서는 많은 colony를 분리할 수가 있었다. 따라서 selective supplement에서 증균하고 Rambach agar에서 분리하여 *Salmonella*-like strain을 분리하고자 하였고 이와같은 방법으로 총 121개의 균주를 일차적으로

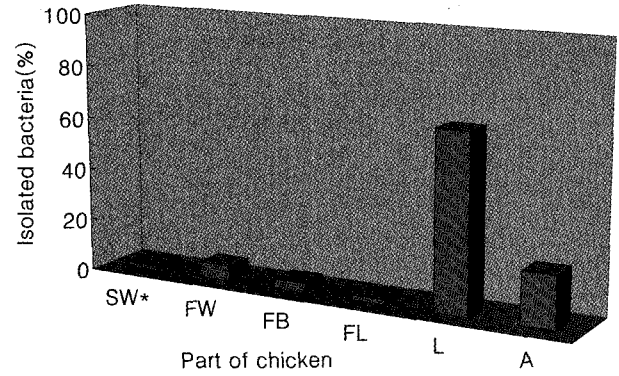


Fig. 1. Isolation and identification of bacteria isolated from *Salmonella* selective media.

*The symbols of SW, FW, FB, FL, L and A indicate the samples from skin of whole chicken, flesh of whole chicken, flesh of chicken breast, flesh of chicken leg, whole chicken leg and cut chicken, respectively.

분리할 수가 있었다.

Salmonella의 동정: 경기지역의 한 단체급식용 생 계육제품에서 분리된 *Salmonella* 선택배지균 121주를 생화학적인 특성과 API 20E를 사용하였다. API 20E는 Enterobacteriaceae와 그 밖의 Gram negative rods bacteria를 동정하는 system으로 API 20E strip에서 biochemical tests를 하여 그 결과를 API Lab plus(bioMerieux) software 이용해 확인하였다. 이것은 실험실에서 간편하게 실험할 수 있고, 짧은 시간에 균 동정을 할 수 있어 많이 사용되고 있다. API 20E test 결과 *Salmonella* 균주는 총 51주로 확인되었고 또한 선택배지에서 분리된 균주의 약 40%가 *Salmonella*인 것으로 나타났다. 또한 처리시기가 각각 다른 각 부위에서의 분리율은 Fig. 1과 같은데 흥미롭게도 계육의 다리시료에서 가장 많이 분리할 수가 있었다. 이는 특별히 도계전에 다리부위만 *Salmonella*가 오염된 것이라기 보다는 도계시부터 교차오염 등으로 인한 이차오염인 것으로 보였고 따라서 전처리가 오염의 정도에 중요하게 영향을 주고 있음을 알 수가 있었다.

분리된 wild type *Salmonella*중에는 몇몇 생화학적인 특성이 전형적인 *Salmonella* 특성과는 서로 다르게 나왔지만, API 20E를 사용하여 동정을 해본 결과는 *Salmonella*인 것으로 확인이 되었다. 특히 H_2S 의 생산, methyl red test(+), Voges-proskauer test(-) 등으로 알려진 전형적인 특성과는 반대의 성질을 가지고 있는 분리 몇몇 균주들이 최종적으로는 *Salmonella*로 확인이 되었다. *Salmonella*는 여러 환경에서 돌연변이를 통해 적응력이 뛰어난 것으로 알려져 있으므로 *Salmonella*와 생화학적인 성상이 약간 상이하게 나왔더라도 여러가지 환경 적응에 의한 변이의 결과인 것으로 보였다. 따라서 종래의 재래적인 생화학적인 특성만으로 균을 동정하는 것 역시 한계가 있는 것으로 보였고 보다 많은 특성을 고려하여 동정을 해야 한다는 것을 알 수가 있었다.

항생제 내성

계육시료에서 분리된 *Salmonella* 51주의 항생제 감수성은 agar disk diffusion에 의하여 실험하였다. β -Lactam계, aminoglycoside계, tetracycline계, quinolone계 등에 속하는 항생물

Table 3. Antibiotic-resistance patterns of *Salmonella* strains isolated from different parts of raw chicken

Isolates	Antibiotic resistance pattern*
SW1** FW3 FW5 FW8	AM-CF-S-K-GM-N-T-NA-C
L13	AM-CF-S-K-GM-N-T-NA
L15	AM-S-K-GM-N-T-NA-C
A52	CF-S-K-GM-N-T-NA-C
L55	AM-CF-S-K-GM-N-T-C
L19	AM-S-K-GM-N-NA-C
A67 A58	S-K-GM-N-T-NA-C
FB4 A95 FB10 FL1	K-GM-N-T-NA-C
L14 L42 L50	AM-K-GM-N-NA-C
A19	AM-K-GM-N-T-C
A16	AM-CF-K-GM-N-C
L11	K-GM-N-T-C
L23	GM-N-T-NA-C
L51	S-K-GM-N-C
L52 A74 A73	K-GM-N-NA-C
A68 A87	CF-GM-N-C
L10 L35 L36 L37 L38	GM-N-T-C
L44	K-N-NA-C
L47	AM-GM-N-C
L16 L21 L39 L53	GM-T-C
L22 L31 L38 L45 L46 L49	GM-N-C
L8 L9 L41 L43 L54	GM-C
L26	C

*AM: ampicillin, C: chloramphenicol, CF: cephalothin, GM: gentamicin, K: kanamycin, N: neomycin, NA: nalidixic acid, S: streptomycin, T: tetracycline

**The abbreviations of SW, FW, FB, FL, L and A indicate the samples from skin of whole chicken, flesh of whole chicken, flesh of chicken breast, flesh of chicken leg, whole chicken leg and cut chicken, respectively.

질 9종에 대한 내성을 시험한 결과는 Table 3과 Fig. 2와 같다.

그 결과 모든 균주가 1 종 이상의 항생물질에 내성을 보였으며, 4 종 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제내성주는 35 주로 약 70%에 이르러서 항생제 내성균주의 비율이 높은 것으로 나타났다. 차⁽²²⁾에 따르면 닭고기 분리 *Salmonella*에 대한 항생제 내성 시험결과 1 종 이상의 항생물질에 대한 내성을 보이는 분리주는 74.5%이었으며, 4 종 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제내성주는 48.9%로 본 실험결과에 비하여 낮은 항생제 내성을 나타내었다. 이전까지도 계육에서 분리되는 *Salmonella*에 대한 항생제 내성이 비교적 낮은 것으로 보고^(12,14,15)되어 왔지만 상기의 결과는 이와는 달리 높은 내성을 보여주고 있는 것이다. 따라서 초등학교 등의 집단급식에 공급되고 있는 계육의 사육과 위생처리에 공공위생기관의 관리가 필요함을 알 수가 있었다.

항생물질의 계열에 따른 닭고기에서 분리된 *Salmonella*의 내성은 다음과 같다. 실험에 사용된 9 종의 항생물질에 대해서 모두 19.6% 이상의 높은 항생제 내성을 가지며, 특히 aminoglycoside 항생물질인 gentamicin과 chloramphenicol에 대한 내성은 각각 96.1%, 98.0%의 매우 높은 항생제 내성을 관찰할 수 있었다. 이러한 경향은 다른 보고의 tetracycline계

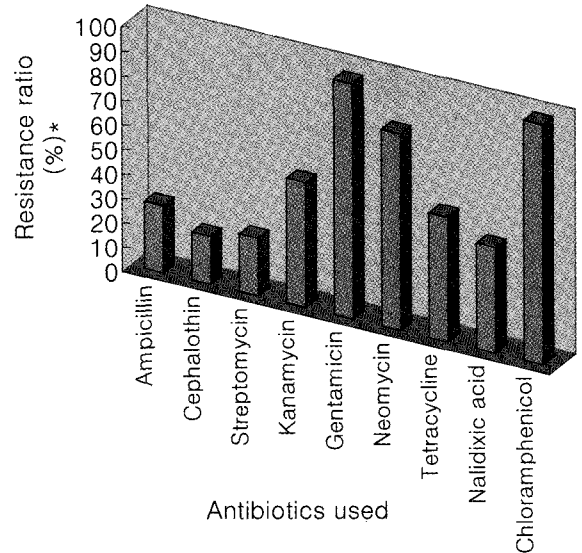


Fig. 2. Antibiotic resistance of *Salmonella* isolates from chicken carcasses.

*(Number of isolates resistant to antibiotics/Number of total isolates) × 100

의 항생제와 streptomycin에서의 높은 내성과는 다르게 나온 것이다. 이는 일반적으로 브로일러 양계종에 항생제를 투여가 빈번한 것으로 알려져 있는데 이때 서로 다른 종류의 항생제 처리에 기인할 수도 있는 것으로 보인다.

Sanitizing agents에 대한 분리 *Salmonella*균의 생리특성

Lactic acid에 대한 내성: 육류 부패 미생물에 대해서 저해효과가 큰 것⁽²⁴⁾으로 알려진 lactic acid와 같은 유기산들은 세포내부로 수송되어 세포 내부에서 해리 되고 해리된 유기산은 세포의 pH를 변화시켜 다른 요소와 함께 효소의 변성⁽²⁵⁻²⁷⁾을 일으켜 식중독균을 저해하는 것으로 알려져 있다. 이러한 lactic acid를 사용해 생 계육에서 분리·동정된 *Salmonella*를 agar disk diffusion법으로 감수성 시험한 결과는 Table 4와 같다.

대조균으로 사용된 4 종의 표준균주들 *S. typhimurium* ATCC14028, *S. typhimurium* ATCC12023, *S. heidelberg*, *S. enteritidis*(isolated from egg) 경우에는 모두 6% 이하의 lactic acid에 대하여 내성을 보이지 시작하였으며, wild type의 대부분 균주 또한 6% 이하의 lactic acid에 대하여 모두 내성을 나타내었다. 계육에서 분리한 *Salmonella* 51 주 중 31 주(60.8%)가 6.0% 이하의 농도에서 lactic acid에 대한 내성을 보였고, 17 주(33.3%)는 3.0% 이하의 농도에서 lactic acid에 대한 내성을 나타내었으며, 3 주(5.9%)는 1.5%의 농도에서도 내성을 나타내었다. 또한 대부분의 균주는 lactic acid에 대한 내성이 나타나기 시작하는 농도로부터 농도가 증가할수록 감수성이 커지는 경향을 나타내었다. Sanitizing agent인 유기산 중 lactic acid, propionic acid, acetic acid, tartaric acid 중 acetic acid의 효과가 다른 유기산에 비해 효과가 높은 것으로 보고⁽²⁸⁾되었으나, 이 중 비교적 관능적인 품질의 저하가 적은 것으로 알려진 lactic acid에 대한 내성에 대해서는 wild type *Salmonella*는 표준균주보다 더 강한 내성을 보여주는 것

Table 4. Growth inhibition of *Salmonella* spp. isolated from chicken carcasses by lactic acid

<i>Salmonella</i> spp.	Minimal inhibition concentration of lactic acid* (%v/v)	Ratio (%)
L47*** L55 L15	1.5	5.9
A87 45 L8 L11 L16 L26 L31 L38 L42 L43 L146 L51 L53 A95 FB10 A73 A16	3.0	33.3
A67 A68 SW1 L9 L10 L14 L21 L22 L23 L35 L36 L37 L39 L44 L45 L47 L48 L49 L50 L52 L54 LF1 A74 A52 L13 FW3 FW5 FW8 L19 A19 A48 <i>S. heidelberg</i> <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 <i>S. typhimurium</i> ATCC 12023 <i>S. enteritidis</i> (isolated form egg)	6.0	60.8
None**	9.0	0

*100 μ L of each lactic acid concentration was applied to the disk on the agar.

No growth was observed for all of 51 strains when they were treated with 9% lactic acid solution. *The abbreviations of SW, FW, FB, FL, L and A indicated the samples from skin of whole chicken, flesh of whole chicken, flesh of chicken breast, flesh of chicken leg, whole chicken leg and cut chicken, respectively.

S. typhimurium ATCC 14028, *S. typhimurium* ATCC 12023, *S. enteritidis* (isolated form egg) and *S. heidelberg* were used as reference strains for comparison.

같지는 않는 것으로 나타났다.

Trisodium phosphate에 대한 내성: 계육시료에서 동정된 *Salmonella*의 TSP에 대한 감수성을 agar disk diffusion법으로 시험한 결과는 Table 5와 같다.

대조군으로 사용된 *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. typhimurium* ATCC 12023, *S. enteritidis*(isolated from egg), *S. heidelberg* 4종의 표준균주의 경우에는 20.0% 이하의 TSP에 대하여 내성을 보였으며, *S. heidelberg*의 경우에는 25.0%의

Table 5. Effect of trisodium phosphate on the inhibition of *Salmonella* spp. isolated from chicken carcasses

<i>Salmonella</i> spp.	Minimal inhibition concentration of TSP* (%v/v)	Ratio (%)
A16 A52 L47**	10.0	5.9
FB4 L21 L43 L44 L46 L53	12.5	11.8
A48 A68 A74 A87 FB10 L10 L11 L13 L14 L16 L22 L26 L31 L36 L37 L41 L50 L51 L52 L54 L55 FW5 <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 <i>S. enteritidis</i> (isolated from egg) <i>S. typhimurium</i> ATCC 12023	20.0	43.1
A67 A73 A95 L8 L9 L15 L23 L35 L39 L45 L48 L49 LF1 FW8 SW1 <i>S. heidelberg</i>	25.0	29.4
A19 L19 L38 L42 FW3	NI***	9.8

*TSP solutions(w/v) were prepared in D.W. and each 100 μ L was applied to the disk on the agar.

**The symbols of SW, FW, FB, FL, L and A indicate the samples from skin of whole chicken, flesh of whole chicken, flesh of chicken breast, flesh of chicken leg, whole chicken leg and cut chicken, respectively.

***The growth of the 5 isolates listed left was not inhibited even at the 25% TSP solution.

농도에서 TSP에 대한 내성을 나타내었다. 계육에서 분리한 *Salmonella* 51 주 중 3 주(5.9%)는 TSP 10%에서, 6 주(11.8%)는 12.5%에서, 22 주(43.1%)는 20%에서, 15 주(29.4%)는 25%에서 생육이 저해되기 시작하였다. 그리고 25%에서도 저항성이 있는 균주는 총 5 균주로 A19 L19 L38 L42 FW3가 있었다.

Trisodium phosphate처리시간과 regeneration medium에 따른 내성: *Salmonella*는 외부 환경에 잘 적응하면서 많은 변이종이 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 이들 세균이 Sanitizing agent의 처리 조건에 따라 각 Strain에 얼마의 차이가 있는지 또한 이들이 처리된 후에 외부배양 환

Table 6. Regeneration efficiency of *Salmonella* on each medium after trisodium phosphate treatment

Strains	Control ¹⁾	Regeneration medium and Treatment time ²⁾					
		BHI agar		Rambach agar		SS agar	
		5 min	10 min	5 min	10 min	5 min	10 min
<i>S. typhimurium</i> ATCC14028	4.50 \times 10 ⁸	GR ³⁾	- ⁴⁾	-	-	-	-
<i>S. enteritidis</i>	4.98 \times 10 ⁸	1 \times 10	-	-	-	-	-
L42	5.34 \times 10 ⁸	GR	-	-	-	-	-
L19	4.18 \times 10 ⁸	GR	8.4 \times 10 ²	-	-	4.88 \times 10 ³	-
L54	5.86 \times 10 ⁸	GR	2 \times 10	GR	-	1.46 \times 10 ³	-
WF3	5.40 \times 10 ⁸	GR	-	GR	-	GR	-
A19	2.87 \times 10 ⁸	GR	-	GR	-	GR	-
L38	4.10 \times 10 ⁸	GR	-	3 \times 10	-	-	-
L47	5.42 \times 10 ⁸	GR	-	-	-	5.3 \times 10 ²	-
A52	1.88 \times 10 ⁸	1.4 \times 10 ²	-	-	-	-	-

¹⁾Control indicates the cell number(cfu/mL) before TSP(1%) treatment and ²⁾the time means TSP treatment time. ³⁾GR; More than 10⁶ cfu/mL. ⁴⁾-; No growth.

경에 따라 재생이 어느 정도 가능한지에 대한 연구를 하고자 하였다.

계육시료에서 동정된 *Salmonella*의 배양배지 종류, TSP 처리시간 및 regeneration medium에 따른 TSP에 대한 감수성을 시험한 결과는 Table 6과 같다.

2 종의 표준균주인 *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. enteritidis*(isolated from egg)과 *Salmonella*로 확인된 8종의 균주를 각각 Salmosyst broth, BHI broth, LB broth에서 배양한 후 cell washing하고 여기에 1% TSP 수용액을 첨가하여 각각 5분, 10 분동안 처리하였다. 이렇게 처리시킨 배양액은 Salmosyst broth는 Rambach agar, BHI broth는 BHI agar, LB broth는 SS agar에 도말하여 37°C에서 24 시간 배양한 후 생균수를 계측하였다.

표준균주로서 사용된 *S. typhimurium* ATCC 14028와 *S. enteritidis*(isolated from egg)는 TSP 처리전 생균수가 각각 4.50×10^8 , 4.98×10^8 으로 나타났으나, 1% TSP를 5 분간 처리한 후 regeneration BHI agar에서 생육을 측정하였을 때를 제외하고 모두 균이 사멸되었다. 이러한 결과는 *Salmonella* strain에 의한 차이점도 있는 것으로 보이나 김등이 *S. enteritidis*에 대하여 수행하였던 연구결과⁽²⁹⁾와 유사하게 나온 것이다. 그러나, 계육시료에서 동정된 wild type의 *Salmonella* 8 종의 경우에는 대체적으로 표준균주에 비하여 TSP에 대한 저항성이 매우 큰 것을 볼 수 있었다. 이 중 agar disk diffusion법에 의한 내성시험 결과 TSP에 대한 내성이 적은 것으로 나타난 L47과 A52의 2 종은, TSP에 대한 저항성이 큰 것으로 나타난 L42, L19, L54, FW3, A19, L38에 비하여 상대적으로 TSP에 내성이 적은 것으로 확인되어 agar disk diffusion법에 의한 실험과 비슷한 결과를 나타내었다.

또한 regeneration medium종류에 따라 내성의 차이가 다르게 나타났다. BHI agar에서 재생된 균주를 *Salmonella* 선택배지인 Rambach agar와 SS agar에서 보다 더 많이 측정할 수 있었고 Rambach agar에서 제일 적은 것으로 나타났다. 따라서 재생 생육시에 영양원 등의 환경 차이는 *Salmonella*의 TSP 내성에 영향을 주고 있음을 알았다. 이 사실은 실제로 생 계육에서 이러한 위생처리제를 사용될 때는 대상 *Salmonella* 균주가 wild type이고 또한 계육 표피의 모공속에서 존재하므로써 예상되는 효과가 훨씬 작게 나타날 수가 있다고 사료된다.

요 약

단체급식용으로 납품되는 생계육에서 *Salmonella*를 분리하여 생육제어를 위한 생리특성을 분석하였다. 계육의 총균수는 표피의 내부 살부위에서도 표피 균수의 약 10%정도가 검출되었으며 75 개 계육시료로부터 선택배지를 사용하여 분리한 후 최종적으로 51 주의 *Salmonella*를 동정하였다. 이들 균주 중 약 70%의 *Salmonella*는 4 종 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제내성균으로 보여 국내에서의 기 분리균에 비해서 높은 비율의 항생제에 대한 내성을 나타내었다. 이들 *Salmonella*에 대한 여러 가지 위생처리제인 유기산의 중 lactic acid와 trisodium phosphate를 agar disk diffusion으로 표준균주인 *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. typhimurium* ATCC

12023, *S. heidelberg*, *S. enteritidis*(isolated from egg)와 비교하였다. Lactic acid는 분리된 *Salmonella*나 표준균주 모두 비슷한 정도의 내성을 보여 주었고 오히려 분리 *Salmonella*는 더 내성이 적었다. 그러나 최근에 중요시되는 trisodium phosphate에는 표준균주에 비하여 분리된 wild type에서 내성이 강한 균주가 거의 절반에 가까운 정도로 많음을 알 수가 있었다. 또한 trisodium phosphate에 대한 내성은 처리시간과 처리 후 재생배지에 따라 다르게 보여서 이들은 환경에 따라 내성이 다르게 나타난다는 것을 알았다. 계육에 오염된 *Salmonella*는 wild type이므로 실제 위생처리제로 사용할 때는 좀더 철저한 처리가 요망되었다. 그러므로 집단 급식소에 납품되는 계육은 브로일러 사육단계에서의 항생제 관리와 도계과정으로부터 세균오염을 줄여야 하는 노력과 함께 이러한 식중독균의 제어를 위한 위생처리제에 대한 지속적인 기술개발도 필요할 것이다.

감사의 글

이 논문은 1999년도 한국학술진흥재단의 신진교수연구과제(KRF-99-003-G00088) 연구비에 의하여 지원되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- Lewinne, M.M. and Lewie, H. Changes in human ecology and behaviour in relation to the emergence of diarrheal disease, including cholera. PNAS USA, 91: 2390-2394 (1994)
- Shin, S. J. Emerging foodborne pathogens of public health importance. The challenges and prospects for the 21st century in veterinary science. 38: 77-83 (1998)
- CDC. Incidence of foodborne illness: Preliminary data from the foodborne disease active surveillance network(Foodnet)-United State. MMWR. 48(09): 180-194 (1999)
- Korea Health Industry Development Institute Report. Foodborne pathogen occurrence trend analysis and effective management method (1998)
- Kim, K.Y., Frank, J.F. and Craven, S.E. Three-dimensional visualization of *Salmonella* attachment to poultry skin using confocal scanning laser microscopy. Lett. Appl. Microbiol. 22: 280-282 (1996)
- Kim, K.Y. Lillard, H.S. Frank, J.F. and Craven, S.E. Attachment of *Salmonella typhimurium* to poultry skin as related to cell viability. J. Food Sci. 61(2): 439-441(1996)
- Ewing, W.H. and Edwards, E., Identification of *Enterobacteriaceae*, 4th. ed., Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York. pp. 181-318 (1986)
- Balou, A. Hausler, W.J. Jr. Isenberg, H.D. and Shadomy, H.J. Manual of Clinical Microbiology, 5th ed., American Society for Microbiology. Washington D.C. (1991)
- Krieg, N.R. and Holit, J.G. Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1, Williams & Wilkins Baltimore (1984)
- Lee, C.H., Ko, K.K., Lim, B.U. and Moon, K.S. Bacteriological studies on the distribution of pathogenic enterobacteria in the natural environments. J. Kor. Soc. Microbiol. 14(1): 1-9 (1979)
- Lee, Y.T. and Lee, C.H. Study on enteric pathogenic bacteria from the environments and human. J. Kor. Soc. Microbiol. 16(1): 1-18 (1981)
- Ha, T.Y., Chung, S.S. and Kang, B.K. Distribution of R factors in *Salmonella* and *Escherichia Coli* isolated from Korean domestic animals. J. Kor. Soc. Microbiol. 6(1): 21-28 (1971)
- National Institute of Health Report. Infection occurrence informa-

- tion. (1992-1998)
14. Kang, J.B., Cho, K.H., Yong, K.C., Choi, O.K., Lee, M.J., Yoon, K.B. and Kim, Y.S. Studies on the characteristics of *Salmonella* spp. isolated at risk area in Kyonggi-Do. Report of Kyonggi-Do Institute of Health and Environment 11: 164-172 (1999)
 15. Kim, W.Y., Chang, Y.H., Park, K.Y. and Kim, C.J. Antimicrobial drug susceptibility and plasmid profiles of *Salmonella* species isolated from poultry. Korean J. Ver. Res. 35(3): 537-542 (1995)
 16. Giese, J. Experimental process reduces *Salmonella* on poultry. Food Technol. 46: 112 (1992)
 17. Hamby, P.L. Savell, J.W. Acuff, G.R. Vanderzaant, C. and Cross, H.R. Spray-chilling and carcass decontamination systems using lactic and acetic acid. Meat Sci. 12: 1-14 (1995)
 18. Kim, J. and Marshall, D.L. Microbiological colour and sensory changes of refrigerated chicken legs treated with selected phosphates. Food Res. Inter. 32: 209-215 (1999)
 19. Kotula, K.L. and Pandya, Y. Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. J. Food Prot. 58: 1326-1329 (1995)
 20. Mendonca, A.F. Molins, R.A. Kraft, A.A. Walker, H.W. Microbiological, chemical and physical changes on fresh, vacuum-packed pork treated with organic acids and salts. J. Food Sci. 54: 18-21 (1989)
 21. Kim, J.W. Slavik, M.W. Pharr, M.D. Lobsinger, C.M. Tsai, S. Reduction on *Salmonella* on post chill chicken carcasses by trisodium phosphate treatment. J. Food Safety 14: 9-17 (1994)
 22. Cha, J. Characterization of *Salmonella* isolated from domestic retailed chicken. Korea University Graduate School Doctorate Dissertation (1999)
 23. AOAC international. Bacteriological Analytical Manual(8th edition) (1995)
 24. Acuff, G.R., Vanderzant, C., Savell, J.W., Jones, D.K., Griffin, D.B. and Ehlers, J.G. Effect of acid decontamination of beef subprimal cuts on the microbiological and sensory characteristic of steaks. Meat Sci. 19: 217-221 (1987)
 25. Ita, P.S. and Hutkins, R.W. Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth containing acetic, lactic, citric and hydrochloric acids. J. Food Prot. 54: 15-19 (1991)
 26. Fernandes, C.F. and Shahani, K.M. Modulation of antibiosis by lactobacilli and other lactic cultures and fermented food. Microbiol. Aliment. Nutr. 42: 337-352 (1989)
 27. Booth, I.R., Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Microbiol. Rev. 49: 358-378(1985)
 28. Ahn, Y.S. and Shin, D.H. Antimicrobial effects of organic acids and ethanol on several foodborne microorganisms. Korean J. Food Sci. Technol. 31(5): 1315-1323 (1999)
 29. Kim, K.Y. and Jang, K.I. Jang, K.I. Contamination prevention and inactivity technics development of foodborne pathogen from domestic poultry. Proceeding of 64th Korean Society of Food & technology Scientific Meeting. pp. 117-129 (2000)

(2001년 5월 22일 접수)